N° 8. **G. Anders,** Zürich. — Papierchromatographischer Nachweis von höheren, nichtflüchtigen Fettsäuren bei *Drosophila melanogaster*. (Mit 5 Textabbildungen.)

Aus dem zoologisch-vergleichend-anatomischen Institut der Universität Zürich [1].

Einleitung und Problemstellung

Die Ergebnisse zahlreicher physiologisch-genetischer Arbeiten zeigen, dass sich die Wirkung der Gene häufig in recht komplexen pleiotropen Wirkungsmustern manifestiert (Hadorn, 1945). Die ersten Untersuchungen dieser Art wurden meist an morphologischen oder entwicklungsphysiologischen Wirkungsmustern durchgeführt, doch zeigt sich immer mehr, dass der biochemischen Pleiotropie (Hadorn, 1954) eine hervorragende Bedeutung zukommt.

Von diesem Gesichtspunkt aus gewinnen Stoffwechselvorgänge und -Anomalien ein besonderes genetisches Interesse. Gut bekannte Objekte der genetischen Untersuchungen wie die Mutanten von *Drosophila melanogaster* wurden auch in diesem Sinne geprüft. Das Hauptinteresse konzentrierte sich vor allem auf die Untersuchung der Augenpigmente und der Eiweisskörper, sowie ihrer Stoffwechselprodukte (Hadorn, 1956). Nun ist aber erst aus einer möglichst vielseitigen Erfassung der genbedingten Stoffwechselvorgänge eine Einsicht in die primäre Aktivität der Gene zu erhoffen (Hadorn, 1954). Eine grosse Stoffgruppe, diejenige der Lipoide, hat bisher bei physiologisch-genetischen Untersuchungen wenig Beachtung gefunden. Das ist besonders bei *Drosophila melanogaster* der Fall. Dabei sollte gerade hier der Lipoidstoffwechsel in mehrfacher Hinsicht die Möglichkeit zu aufschlussreichen Untersuchungen liefern.

---

[1] Herrn Prof. Dr. E. Hadorn danke ich bestens für die grosszügige Förderung dieser Arbeit. Den Herren Prof. Dr. H. P. Kaufmann, P.-D. Dr. A. Seher, Dr. Kirschneck, Münster (Westf.), sowie den Herren Prof. Dr. H. K. Mitchell, Pasadena u. M. Viscontini, Zürich danke ich für ihre wertvollen Ratschläge.

Aus den Arbeiten von Begg und Robertson (1950) geht hervor, dass sich *Drosophila melanogaster* unabhängig von jeglicher Zufuhr verseifbarer Fettstoffe normal entwickeln kann. Die Physiopathologie des Fettstoffwechsels wird sich also bei Drosophila am ehesten im Bereich des transitorischen oder endogenen Fettes (Kaufmann, 1953) abspielen. Damit sind jene Fettsubstanzen gemeint, die innerhalb des Organismus aus anderen Stoffklassen gebildet werden. Somit sind zahlreiche Möglichkeiten für den direkten Eingriff einzelner Gene in den Fettstoffwechsel gegeben. Deshalb ist durchaus zu erwarten, dass sich unter den Mutanten von *Drosophila melanogaster*, vor allem unter den Letalfaktoren, die vielfältige Erscheinungen von biochemischer Pleiotropie (Hadorn, 1955) aufweisen, eine erhebliche Anzahl finden dürfte, welche Defekte des Fettstoffwechsels aufweisen.

Die bisherigen Fettuntersuchungsmethoden waren den Bedürfnissen der physiologischen Genetik nicht in jeder Hinsicht angepasst. Eine der Hauptschwierigkeiten, die sich einer gründlichen Untersuchung mancher Mutanten entgegenstellten, war die geringe Menge des zur Verfügung stehenden Materials.

Eine der empfindlichsten ultramikroanalytischen Methoden ist zweifellos die Papierchromatographie. In den letzten Jahren haben besonders Kaufmann und seine Schule (Übersicht bei Kaufmann und Mohr, 1958) sodann Schlenk und Mitarbeiter (Übersicht: Schlenk und Mitarbeiter, 1957) durch ihre Untersuchungen die Papierchromatographie der Fettstoffe soweit ausgebaut, dass sie zu einem zuverlässigen und vielseitig brauchbaren Instrument der Fettanalyse geworden ist. Es war deshalb naheliegend, sie zu unseren Zwecken zu verwenden.

Wir beschränkten unsere Untersuchungen auf die verseifbaren Lipoide. Auch hier musste noch eine Auswahl getroffen werden. Vorerst sind die papierchromatographischen Nachweismethoden der höheren, nicht flüchtigen geradkettigen Fettsäuren besonders weit entwickelt. So konzentrierten wir unsere Untersuchung auf diesen Bereich.

Das Ziel der vorliegenden Untersuchungen war, vorerst das Inventar der höheren, nichtflüchtigen Fettsäuren von *Drosophila melanogaster* aufzunehmen, um auf diese Weise die sachliche und methodische Grundlage für nachfolgende physiologisch-genetische Untersuchungen zu schaffen.

Methoden

a) *Extraktion der Fette.*

Die Extraktion der Fette wurde mit Aceton (Lovern, 1957) auf folgende Art vorgenommen:

Die abgezählten und gewogenen Objekte wurden mit der doppelten Gewichtsmenge Na_2SO_4 in Glühröhrchen aus Pyrexglas zu einer Paste verrieben. Die Paste wurde mit mindestens dem doppelten Volumen Aceton absol. versetzt und in N_2-Atmosphäre bei Zimmertemperatur mindestens 48 Stunden lang stehen gelassen. Anschliessend wurde das überstehende Aceton abpipettiert und der Rückstand viermal mit je dem doppelten Volumen Aceton absol. ausgewaschen. Der gesamte Acetonextrakt wurde bei 70 mm Hg eingedampft. Bei grösseren Proben wurde das Fett zusätzlich im CO_2-Strom getrocknet.

b) *Verseifung.*

Die Fettsubstanz wurde mit 0,5 n alkoholischer KOH Lösung im Überschuss versetzt und bei Zimmertemperatur in einer N_2-Atmosphäre lichtgeschützt stehen gelassen. Nach mindestens 24—36 Stunden wurde die alkoholische Seifenlösung im Vakuum bei 60—70 mm Hg und Zimmertemperatur auf die Hälfte eingedampft; danach wurde mit destilliertem Wasser aufs ursprüngliche Volumen ergänzt.

c) *Entfernung der unverseifbaren Bestandteile durch Ausschütteln mit Petroläther.*

d) *Darstellung der Fettsäuren.*

Die Seifenlauge wurde mit 2 n HCL im Überschuss angesäuert. Die freien Fettsäuren wurden mit absolutem peroxydfreiem Äther ausgeschüttelt. Die Gesamtmenge des Äthers wurde nun mit dest. Wasser wiederholt ausgewaschen, bis das Waschwasser das p^H des dest. Wassers aufwies. Der ätherische Extrakt wurde anschliessend mit Na_2SO_4 getrocknet, zentrifugiert, abpipettiert und der Äther bei 70 mm Hg abgedampft.

Wurden von den Fettsäuren Vorratslösungen mit bestimmtem Titer angesetzt, so wurden die Substanzen vorerst bis zur Ge-

wichtskonstanz im CO_2-Strom getrocknet und darauf meistens in Benzol oder Toluol gelöst. Je nach Bedarf wurden für Chromatogramme 0,2—0,5% Lösungen verwendet. Die Auftragmenge betrug 50—80 γ im 1- dimensionalen und 100—120 γ im 2- dimensionalen Verfahren.

Waren die Fettsäuremengen nur gering (bis 500 γ), und waren sie nur zur Verwendung für ein einzelnes Chromatogramm vorgesehen, wurden sie in der Menge Benzol gelöst, die zum Auftragen zweckentsprechend war (20—30 cmm).

e) *Untersuchung der Fettsäuren.*

Chromatographische Methoden.

In allen Fällen wurde Whatman No 1 Papier verwendet und aufsteigend chromatographiert.

Vorbehandlung des Papiers und der Steiglösungen:

Teilimprägnierung des Papiers mit verdünntem Undekan nach Kaufmann (1958) (Undekan: Eisessig: Benzol 6: 0,5: 7; Undekan standardisiert für Papierchromatographie, Firma J. Haltermann, Hamburg). Das Auftropfen grösserer Fettsäuremengen aufs Papier, wie es bei Orientierungsuntersuchungen häufig unumgänglich ist, gestattet keine Vorimprägnierung des Papiers. Wir haben deshalb die Fettsäuren auf unbehandeltes Papier aufgetragen und erst nach erfolgtem Auftragen die Teilimprägnierung mit Undekan in Barriereform durchgeführt, derart, dass etwa ein 1 cm breiter Streifen oberhalb der Fettsäureflecken frei blieb. Während des Verdunstens des Benzols (ca 10') fand die Undekanbarriere durch Diffusion im Papier jeweils gerade den Anschluss an die Fettsäuren.

Als Steigflüssigkeit wurde bei dieser Vorbehandlung des Papiers meist Aceton-Eisessig-Wasser 8: 2: 1 verwendet.

Vollimprägnierung des Papiers mit Silikon DC fluid 200 (10 cst bei 25° C, Dow Corning). Verwendet wurde eine 5% Lösung von Silikon in Äther (Schlenk u. a., 1957). Die imprägnierten Papiere wurden vor Gebrauch durch Leerentwicklung in 80% Essigsäure gewaschen. Steigflüssigkeit: Ameisensäure 42%, Essigsäure 40,5%, Wasser 17,5%. Verwendung bei — 6° C zur Trennung von gesättigten und ungesättigten Säuren; bei Zimmertemperatur mit 80% Essigsäure für Übersichtschromatogramme. Bei der zweidimensionalen Chromatographie mit dieser Imprägnierung wurde das Papier nach dem ersten Lauf 30 Minuten bei 80° C getrocknet. Nach der

zweiten Entwicklung in 80% Essigsäure wurde das Papier zur Entfernung der Säure 40 Minuten bei 110° C getrocknet und anschliessend reichlich belüftet.

Der Nachweis der Fettsäuren erfolgte meistens nach KAUFMANN (1954) über die Kupfersalze der Fettsäuren und nachfolgender Umsetzung mit Kaliumhexacyanoferrat (II). Die auf dem Papier entstehende braunrote Kupfereisenverbindung steht in stöchiometrischer Mengenbeziehung zu den verwendeten Fettsäuren (SEHER, 1956). Mit dieser Methode lassen sich höhere Fettsäuren von C_{14} an aufwärts quantitativ nachweisen.

Zur selektiven Lokalisation der ungesättigten Fettsäuren wurde die Färbung mit Joddampf bei 50°-60° C verwendet (SCHLENK u. a. 1957). Eigene Tests ergaben, dass im Bereich der in Frage kommenden Fettsäuren und bei den von uns verwendeten Mengen, nur die ungesättigten positiv reagierten.

3. Die quantitative Erfassung der von den Fettsäuren gebildeten Flecken erfolgte mit einem Photovolt Densitometer, Modell 425 M mit Photozelle B und Durchlichtkasten 52 C. Die Messungen der mit Kupferhexacyanoferrat II gefärbten Chromatogramme erfolgte mit einem Sekundärfilter mit maximaler Durchlässigkeit bei 490 mμ, die Jodflecken wurden bei 440 mμ gemessen.

f) *Zuchtmethoden.*

Zu allen Versuchen wurde folgendes Standardfutter verwendet: Wasser 940 ccm, Maisgries 125 gr, Rohrzucker 65 gr, Trockenhefe 28 gr, Agar-Agar 7,5 gr. Zur Konservierung wurde 1 ‰ Nipagin zugesetzt. Die erkalteten Futterböden wurden mit reichlich Frischhefe bestrichen. Die Zuchttemperatur betrug 25° ± 0,5° C.

MATERIAL

Das Inventar der Fettsäuren wurde auf Grund zahlreicher Extrakte aufgenommen. Im folgenden sollen die Befunde an Hand einzelner Beispiele erläutert werden.

a) Larven des dritten Stadiums kurz vor der Verpuppung, Wildstamm *Sevelen.*

Aus 96 weiblichen Larven mit einem Frischgewicht von 228,4 mg wurden 11,67 mg Fettsäuren gewonnen. 57 männliche Larven

gleichen Alters und aus der gleichen Zucht mit einem Frischgewicht von 99,54 mg lieferten 6,17 mg Fettsäuren.

b) Imagines.

Verwendet wurde ein Extrakt aus 40 Weibchen des Wildstammes *Sevelen* im Alter von $3\frac{1}{2} \pm 3\frac{1}{2}$ Stunden nach dem Schlüpfen. Das Frischgewicht der 40 Weibchen betrug 55,76 mg. Es wurden daraus 3,75 mg Fettsäuren gewonnen.

Ergebnisse

Im eindimensionalen Chromatogramm (Papier teilimprägniert mit Undekan; Entwicklung mit Aceton-Eisessig-Wasser nach Kaufmann, 1958) zeigen sich bei einer Auftragsmenge von 80 γ Fettsäure, zwei nah aneinander liegende kräftige Flecken (Abb. 1). Im Dichtediagramm sind diese Flecken als klar abgesetzte Kurvengipfel erkennbar (Abb. 2). Unmittelbar anschliessend erhöht sich hier die Kurve noch ein drittes Mal. In stark überladenen Chromatogrammen mit ca 500 γ Auftragsmenge wird hier denn auch ein dritter Farbfleck sichtbar.

Da die natürlichen Fettsäuregemische beim Auftragen auf dem Papier im Gegensatz zu den daneben aufgetragenen gesättigten Testsäuren nach Verdunsten des Lösungsmittels einen deutlich ölig-durchsichtigen Fleck bildeten, war zu vermuten, dass im natürlichen Gemisch ungesättigte, flüssige Säuren vorhanden seien. Dies musste nun geprüft werden. Ungesättigte Fettsäuren nehmen im Gegensatz zu den gesättigten im Joddampf eine gelbe bis braune Färbung an (Schlenk u. a., 1957; M. Whitehouse u. a., 1959). Ein nach dieser Methode mit Jod angefärbtes Chromatogramm von Drosophila-Fettsäuren lässt drei klare Flecken erkennen. Das Dichtediagramm (Abb. 3) lässt seinerseits drei deut-

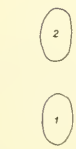

Abb. 1.

Schematische Darstellung eines Fettsäurechromatogramms von *Drosophila melanogaster*. Aufgetragen: 80 γ Säuregemisch. Entwicklung nach Kaufmann S. 174. Die Flecken 1 und 2 wurden vom Originalchromatogramm abgepaust. Auf. $\frac{1}{3}$ verkleinert.

liche Gipfel erkennen. Damit sind zumindest drei ungesättigte Fettsäuren nachgewiesen.

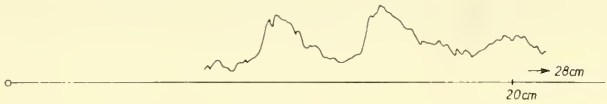

Abb. 2.

Dichtediagram der Fettsäuren (50 γ) männlicher Larven von *Drosophila melanogaster*. Von links nach rechts entsprechen die zwei ersten Kurvengipfel den Flecken 1 und 2 von Abb. 1. Bei 20 cm dritter Gipfel. Entwicklung nach Kaufmann S. 174. Steighöhe, 28 cm.

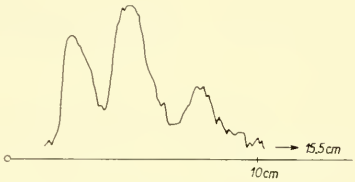

Abb. 3.

Dichtediagramm eines nach Schlenk S. 175 mit Jod behandelten Chromatograms. Ca 65 γ Fettsäuren von weiblichen Larven von *Drosophila melanogaster*. Die Kurvengipfel entsprechen drei Flecken auf dem Chromatogramm. Steighöhe 15,5 cm.

Die nächste Frage, die sich stellte war ob die einzelnen Flecken des Chromatogrammes durch Reinsubstanzen oder durch Gemische von gleichem Laufwert bedingt seien. Bekanntlich gibt es einzelne, ungesättigte Fettsäuren, deren Laufwerte weitgehend mit denen bestimmter gesättigter Fettsäuren übereinstimmen. So bildet Oelsäure, mit Palmitinsäure, Linolsäure mit Myristinsäure, Linolensäure mit Laurinsäure sogenannte „kritische Paare" (Kaufmann, 1958). Sind solche „kritische Partner" gleichzeitig in einem Gemisch vorhanden, lassen sie sich nur mit besonderen Methoden chromatographisch trennen.

Um diese Frage zu klären, wurden die Gemische zuerst auf silikonisiertem Papier nach Schlenk (s. S. 174) bei — 6° C chromatographiert. Hier sollten sich gesättigte und ungesättigte Fettsäuren trennen (Schlenk u. a., 1957; Kaufmann und Mohr, 1958), indem die ersteren am Startpunkt bleiben, die letzteren jedoch entsprechend ihrem Laufwert gegen die Front wandern sollten.

Anschliessend wurde senkrecht zur ersten Richtung bei 21° C in 80% Essigsäure entwickelt. An Testsubstanzen und natürlichen Gemischen wurde die Vollständigkeit der Kältetrennung für den Bereich des vorliegenden Experimentes überprüft.

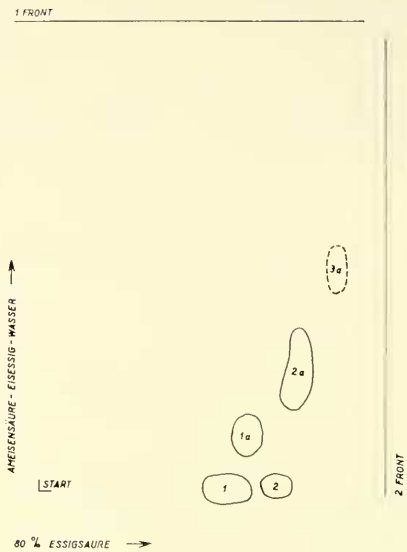

Abb. 4.

Zweidimensionales Chromatogramm der Fettsäuren (120 γ) weiblicher Larven von *Drosophila melanogaster*. Fleck 1 und 2: gesättigte Säuren. Fleck 1 *a*, 2 *a* und 3 *a*: ungesättigte Säuren. Steighöhen: I. 18,5 cm, II. 14 cm. Methode, s. S. 174.

Das Ergebnis der zweidimensionalen Chromatographie ist aus Abbildung 4 ersichtlich. Auf der Höhe der Startlinie sind zwei Flecken sichtbar (1 und 2), dementsprechend muss es sich hier um zwei gesättigte Fettsäuren handeln. Oberhalb der Startlinie sind drei Flecken sichtbar, 1a, 2a, 3a, entsprechend den drei bereits festgestellten ungesättigten Säuren. Der Fleck 3a kommt bei der Kupferhexacyanoferrat - II - Färbung im Vergleich zur Jodfärbung nur sehr schwach zur Geltung. Dies beruht auf den besonderen Eigenschaften der Nachweismethoden (s. S. 175). Die Befunde am zweidimensionalen Chromatogramm bestätigen die Auskünfte der eindimensionalen Chromatographie und erweitern sie insofern, als sie die Feststellung von mindestens zwei kritischen Paaren, er-

lauben. Bei der verwendeten Menge von 120 γ Gesamtfettsäuren war kein Fleck „3“ der als Partner des Flecks 3a hätte gelten können, nachweisbar.

Wie lassen sich nun diese Säuren näher identifizieren ?

Abb. 5.

Dichtediagramm der Fettsäuren (50 γ) weiblicher Larven von *Drosophila melanogaster*. Zugegeben wurden 25 γ Myristinsäure. Von links nach rechts: Erhöhung des zweiten Kurvengipfels. Entwicklung n. Kaufmann S. 174. Steighöhe 28 cm. Vergl. mit Abb. 2.

Wir haben vorläufig darauf verzichtet die Lage der Chromatogrammflecke in Rf-Werten auszudrücken. Bei den eindimensionalen Chromatogrammen bestehen die Flecken ja überwiegend aus Säuregemischen. Hier wäre die Angabe eines Rf-Wertes wohl nicht eindeutig. Anderseits wurden mehrere Laufmittel und Papierimprägnierungen bei verschiedenen Temperaturen verwendet, deren Kombination eine solche Variation der Rf-Werte bedingt, dass es uns besser schien, eine vorläufige Orientierung über die Identität der untersuchten Säuren durch gleichzeitiges Mitlaufenlassen von Testsäuren zu gewinnen.

Da die Laufstrecken der einzelnen Säuren bekanntlich in Abhängigkeit von der aufgetragenen Menge variieren und Gemische sich ausserdem nicht gleich wie einzelne Säuren verhalten, wurden zur besseren Kontrolle der Laufwerte die Testzubstanzen den natürlichen Fettsäuregemischen am Startpunkt beigegeben. Im eindimensionalen Chromatogramm wurde Fleck 1 durch Palmitinsäure verstärkt, der zweite durch Myristinsäure (Abb. 5).

Damit dürften die beiden gesättigten Säuren der Flecken 1 und 2 mit guter wahrscheinlichkeit als Palmitin- und Myristinsäure charakterisiert sein. Dagegen lässt sich die Identität ihrer ungesättigten Partner 1a und 2a nicht so eindeutig festlegen. Hat doch nach Schlenk (1957) z. B. die Palmitölsäure den gleichen Laufwert wie das Paar Myristinsäure Linolsäure und damit ist die Vielzahl der Kombinationsmöglichkeiten keineswegs erschöpft. Hält man sich

an die Häufigkeit des Vorkommens der verschiedenen ungesättigen Fettsäuren in Naturfetten so kann man jedoch mit guter Wahrscheinlichkeit annehmen, dass der mit Palmitinsäure (Flecke 1) gekoppelte Fleck 1a Oelsäure enthält und der Fleck 2a Linolsäure, als Partner von Myristinsäure (Fleck 2). Die Identität des Flecks 3a ist schwer zu bestimmen, da ein gesättigter Partner nicht nachweisbar war. Seine Lage oberhalb und in der Nähe von Myristinsäure (Fleck 2) deutet darauf hin, dass es sich um Linolensäure oder eine andere ungesättigte Säure von gleichem Laufwert handeln dürfte.

Der Vergleich zwischen weiblichen Larven und Imagines zeigte keine auffälligen qualitativen Unterschiede.

Die vorliegenden Untersuchungen gestatten auch bereits eine orientierende Schätzung der Mengenverhältnisse der vorgefundenen Fettsäuren. Berücksichtigt man Molekulargewicht (Seher, 1956) und Sättigungsgrad der Säuren (Schlenk u. a., 1957), so kann man sagen, dass bei den gesättigten Säuren die Palmitinsäure vorherrscht (Fleck 1), während bei den ungesättigten, Fleck 1a und 2a etwa gleichwertig sind. Fleck 3a ist sehr schwach. Der Vollständigkeit halber sei noch hinzugefügt, dass wahrscheinlich noch Stearinsäure (knapp vor Fleck 1) und eine ungesättigte Säure (in der Nähe der Front) ab und zu in sehr geringen Mengen nachweisbar sind.

Diskussion

Aus den Angaben von Hilditch (1957) ist zu entnehmen, dass das Fettsäureinventar, das wir für *Drosophila melanogaster*, aufstellen konnten, durchaus mit den Ergebnissen der wenigen Untersuchungen, die bisher über Insektenfett durchgeführt wurden, übereinstimmen. Bemerkenswert ist jedoch bei Drosophila das Vorhandensein von Myristinsäure, da sich nach Hilditch diese Säure bei Insekten wenig findet.

Ein besonderer Vorteil der papierchromatographischen Methode ist die geringe Menge der zur Untersuchung notwendigen Substanz. Bei der Herstellung der Extrakte konnten wir feststellen, dass man bei *Drosophila melanogaster* pro Individuum mit Fettsäuremengen der Grössenordnung zwischen 100 und 120 γ für Larven und von 60—90 γ für Imagines rechnen kann (s. S. 175). Die Mengen, die

wir für ein zweidimensionalen Chromatogramm verwendeten, entsprechen also dem Fettsäuregehalt einer einzelnen Larve. Daneben können aber auch fünf- und zehnfach grössere Fettsäuremengen noch in befriedigender Weise erfasst werden. Bis jetzt konnten 5 verschiedene höhere, nichtflüchtige Fettsäuren oder Säuregruppen aus dem *Drosophila*-Fett isoliert werden.

Damit wären die Grundlagen zum Nachweis eines genspezifischen Manifestationsmusters auf dem Gebiet des Fettstoffwechsels vorhanden. Eine genauere Analyse wird nun bei einzelnen Mutanten die betroffenen Fettsäuren charakterisieren müssen. Das ist auf der Grundlage der in dieser Arbeit verwendeten Methode durchaus möglich. Vorläufige Untersuchungen lassen bereits vermuten, dass bei der Mutante *letal-meander* (*lme*, 2, 71 bis 73) von *Drosophila melanogaster* im eindimensionalen Chromatogramm ein charakteristischer Defekt im Fleck 2 nachweisbar ist. Die Methode sollte ausserdem bei anderen Objekten wie *Habrobracon juglandis* und *Ephestia kühniella* anwendbar sein. Ganz besonders bei *Ephestia* bestehen schon interessante Grundlagen für solche Untersuchungen. So konnten Fraenkel und Blewett (1947) den Nachweis erbringen, dass die Linolsäure für die Normalentwicklung von *Ephestia* unentbehrlich ist. Bei Mangel dieser Säure entstehen Flügelmissbildungen gleicher Art, wie sie Kühn und Henke (1929) bei der Mutante „*glasflügelig*" von *Ephestia* nachweisen konnten.

Selbstverständlich wird der Untersuchungsbereich noch erweitert werden müssen. Insbesondere müssen noch die niedermolekularen flüchtigen Fettsäuren erfasst werden. Neuerdings sind auch auf diesem Gebiet papierchromatographische Nachweismethoden entwickelt worden (z. B. Manganelli und Brofazi, 1957).

Jedenfalls wird es bald möglich sein, die Genetik der Fettstoffwechselstörungen im gleichen Umfang zu erfassen, wie es im Augenblick bereits für erbliche Defekte des Pterin- oder Aminosäurenmetabolismus möglich ist.

Summary.

1. A micromethod for extracting the acetone soluble lipids of *Drosophila melanogaster* was devised.

2. After saponification, the higher, non volatile fatty acids were separated by inverse phase paper chromatography.

3. Five spots could be detected. Two of them correspond to saturated acids (palmitic and myristic), three exhibit the typical properties of unsaturated acids and contain most probably oleic, linolic and perhaps linolenic acids. Traces of stearic acid could be found.

4. The meaning of these results for biochemical genetics is discussed.

LITERATUR

Begg, M. and Robertson F. W. 1950. *The embryonal requirements of Dros. mel.* J. exp. Biol 26: 380.

Fraenkel, F. and Blewett, H. M. 1947. *Linolic Acid and Arachidonic Acid in the Metabolism of two Insects, Ephestia kühniella (Lep) and Tenebrio molitor (Col)* Biochem. J. 41: 475.

Hadorn, E. 1945. *Zur Pleiotropie der Genwirkung.* Arch. Klaus Stiftg. 20: 82.

— 1955. *Letalfaktoren in ihrer Bedeutung für Erbpathologie und Genphysiologie der Entwicklung.* G. Thiene 1-338.

— 1956. *Patterns of biochemical and developmental pleiotropy.* Cold Spring Harbor Symposia on quantitative Biology Vol. XXI, 363.

Hilditch, T. P. 1956. *The chemical constituents of natural fats.* 3 ed. 1-664. Chapman a. Hall Ltd.

Kaufmann, H. P. 1953. *Zur Biologie der Fette; Glyceride*, Fette u. Seifen, 55: 673.

— und Nitsch, W. 1954. *Die Papierchromatographie auf dem Fettgebiet XVI: Weitere Versuche zur Trennung von Fettsäuren.* Fette und Seifen 56: 154-158.

— und Mohr, E. 1958. *Die Papierchromatographie auf dem Fettgebiet XXIV: Weitere Untersuchungen über die Papierchromatographie der Fettsäuren.* Fette u. Seifen 60: 165.

Kühn, A. und Henke, K. 1929. *Genetische und entwicklungsphysiologische Untersuchungen an der Mehlmotte Ephestia kühniella Z.* Abh. Ges. Wiss., Göttingen, N. F. 15.

Levinson, Z. H. and Silverman, P. H. 1954. *Studies on the Lipids of Musca vicina (Macq) during growth and Metamorphosis.* Bioch. J. 58: 294.

Lovern, J. A. 1957. *The chemistry of Lipids of Biochemical Significance.* 2nd ed. London Methuen a. Co. Ltd.

Manganelli, R. M. und Brofozi, F. R. 1957. *Die quantitative Bestimmung von flüchtigen Säuren durch Papierchromatographie.* Analyt. Chem. 29: 1441.

Marcusson, J. 1952. *Die Untersuchung der Fette u. Oele.* Wilh. Knapp 1-322.

SCHLENK, H., GELLERMANN, L. J. ,TILLOTSON, J. A. and MANGOLD, H. K. 1957. *Paper Chromatography of Lipids.* J. Am. Oil Chem. Soc. 34: 377-86.

SEHER, A. 1956. *Quantitative Bestimmung papierchromatographisch getrennter langkettiger Carbonsäuren auf photometrischem Wege.* Fette Seifen Anstrichmittel 58: 498.

WHITEHOUSE, M., BRESLER, Ann and STAPLE, E. 1958. *The use of iodine for the detection of lipids.* J. of chromatography 1: 385.

N° 9. **F. Baltzer** und **P. S. Chen,** Bern und Zürich. — Über das zytologische Verhalten und die Synthese der Nukleinsäuren bei den Seeigelbastarden *Paracentrotus* ♀ × *Arbacia* ♂ und *Paracentrotus* ♀ × *Sphaerechinus* ♂ [1].

Aus der Zoologischen Station in Neapel und den zoologischen Instituten der Universitäten Bern und Zürich.

Die beiden Verfasser haben seit drei Jahren die Entwicklung von Seeigelbastarden in verschiedener biochemischer Richtung untersucht. Dabei war die Zusammenarbeit immer dieselbe: F. BALTZER stellte das Material bereit, das dann P. S. CHEN zur biochemischen Untersuchung übernahm. Der Aufenthalt des letzten Jahres war der Messung der Nukleinsäuren gewidmet. Sie soll in diesem Jahr weitergeführt werden. Im vorliegenden Aufsatz dreht es sich um zwei Bastardkombinationen, um "PA„, d.i. *Paracentrotus lividus* ♀ × *Arbacia lixula* ♂ und um "PS„ d.i. *Paracentrotus* ♀ × *Sphaerechinus granularis* ♂ und um die beiden Nukleinsäuren: die Ribonukleinsäure (RNS), die vor allem im Nukleolus und im Plasma lokalisiert ist und um die Desoxyribonukleinsäure (DNS), lokalisiert in den Chromosomen. Der interessante Punkt unserer Untersuchung ist, dass die beiden Bastarde gerade im Verhalten der Kerne gegensätzlich sind.

---

[1] Ausgeführt mit Unterstützung durch den Schweizerischen Nationalfonds zur Förderung der wissenschaftlichen Forschung.